

モルモット耳管の糖分布に関する形態学的研究 - 正常動物及び中耳炎モデルにおける比較 -

著者	石戸谷 雅子
号	2587
発行年	1993
URL	http://hdl.handle.net/10097/20978

氏 名（本籍） いし 石 と 戸 や 谷 まさ 雅 こ 子

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 第 2 5 8 7 号

学位授与年月日 平 成 5 年 9 月 8 日

学位授与の条件 学位規則第4条第2項該当

最 終 学 歴 昭 和 59 年 3 月 27 日
東北大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目 モルモット耳管の糖分布に関する形態学的研究
－正常動物及び中耳炎モデルにおける比較－

（主 査）

論文審査委員 教授 高 坂 知 節 教授 名 倉 宏

教授 高 橋 徹

論文内容要旨

【目 的】

耳管機能の障害は滲出性中耳炎をはじめとする各種中耳疾患の発症や遷延化に関与しており、炎症に際しての分泌亢進や分泌液の組成の変化といった量的、質的変動が耳管の粘液線毛輸送機能に影響を及ぼすと報告されている。本研究ではこの分泌に重要な役割を果たしている複合糖質の分布を正常動物と中耳炎モデルにおいて検討するとともに、気道分泌を制御する因子のひとつである神経ペプチドの分布に関しても検討した。

【方 法】

動物はヒトと中耳構造の類似しているモルモット60匹を用い、30匹は正常群とし他の30匹には *in vitro* で作製した HRP 免疫複合体を中耳骨胞に注入して中耳炎モデルとした。各モルモットを断頭・固定後にパラフィン包埋または凍結包埋し、耳管の連続切片を作製した。特定の糖に特異的に結合するレクチン5種と糖鎖構造を認識するモノクローナル抗体17種を使用し、ABC法で反応、DABで発色させて耳管粘膜の糖質の分布を観察した。同様に作製した標本において神経ペプチドの分布をポリクローナル抗体を用い、光顕および電顕下に観察した。

【結 果】

1) レクチン染色では UEA-I, DBA, SBA, WGA が耳管で陽性所見を示した。フコースに対応する UEA-I は粘膜上皮内の分泌細胞と付属分泌腺に陽性所見が得られ、その割合は軟骨部で高く鼓室にむかって低下した。 α -N-アセチルガラクトサミンを凝集する DBA は耳管軟骨に囲まれた roof portion 以外の部分に少数認められ、分泌腺は部分的に強い反応を示した。 α , β -N-アセチルガラクトサミンを凝集する SBA は DBA とは異なる分布を示し、roof portion を含めて全周性に上皮細胞の反応が見られ、一方で分泌腺はほとんど陰性であった。WGA はシアル酸と N-アセチルグルコサミンに対応し、耳管粘膜の表層全周、少数の分泌細胞と分泌腺全体が弱い反応を呈した。2) モノクローナル抗体：17種中 NUH₂, 1B₂, A₂B₅, P₉ の4種の抗体が陽性となった。NUH₂ は sialyl I という糖鎖を同定し、この糖鎖は耳管粘膜上皮の表層全体と下部のごく少数の細胞内、分泌腺の一部に存在が認められた。1B₂ により認識される i は上皮表層のみに見られ、全周性であった。A₂B₅ は GT₃ を認識し、roof portion 中心の表層に強い陽性所見が、neck portion では陰性所見が得られた。P₉ で検定される asialo GM₁ は neck portion に限局して観察され、咽頭口から鼓室口に向かうにつれ減少傾向にあった。

3) 中耳炎モデル：HRP 免疫複合体注入7日目で、フコース，sialyl I，i の分布に変化が確認された。粘膜上皮中のフコースを含む細胞の増加が咽頭口から軟骨部にかけて明らかとなり，sialyl I はほぼ陰性であった上皮内に陽性所見を有する分泌細胞の出現が見られた。一方，i は一時的に表層の反応が低下し，以後回復する傾向にあった。4) 神経ペプチド：substance P (SP) と calcitonine gene related peptide (CGRP) 陽性線維の存在が耳管粘膜周囲に確認された。CGRP 陽性線維は主に外側と内側の粘膜下において鼓室に向かうが，varicosity を持ったより細い線維がネットワークを形成していた。この2種は炎症による変化を示さなかった。

【考 察】

気道系に属する耳管は呼吸上皮の特徴を有し上皮内には分泌細胞（杯細胞），粘膜下には分泌腺が存在する。気道分泌液の主要成分である糖蛋白質は生体において種々の重要な役割を果しており，これは多様な構造を持つ糖鎖構造により規定されている。今回フコースが耳管の粘膜上皮の分泌細胞と分泌腺に多数認められ，炎症刺激により増加するものの他の糖は変化を見せないという結果から，耳管の分泌亢進にはフコースが関与していることが示唆された。モノクローナル抗体により同定される4種の糖鎖はそれぞれ異なる分布を示し，細胞表面の糖鎖構造が部位により違うものであり機能も異なることが予想される。レクチン・モノクローナル抗体の反応の結果耳管における糖・糖鎖の局在性が明らかとなり，このことはこれまでに報告されている roof portion と他の部分の機能分担を裏付けるものである。

CGRP と SP の神経ペプチドが耳管にも認められたことは，知覚，分泌，血管運動などの制御にこれらの物質が何らかの影響を与えている可能性を示唆する。

【結 論】

耳管において複合糖質は局在性を有し，部位による表層の糖鎖構造の違いと炎症時の分泌細胞の動態の差から機能の相違が推定される。

審 査 結 果 の 要 旨

耳管 (eustachian tube) は、鼓室と上気道を結ぶ唯一の管であり、1) 換気、2) 排泄、3) 防御などの機能を果たしている。従って、耳管機能不全は中耳の病態と密接に関連していることが多く、臨床的にも常に注意していなければならないところであるが、解剖学的に把握しにくいこともあって未だに十分な病態生理学的検討がなされていない。石戸谷論文では、耳管における分泌細胞の性格をレクチンやモノクローナル抗体を用いて明らかにし、さらに中耳炎モデル動物におけるそれらの変化を検索して機能不全における分泌細胞の役割について考察している。

プライエル反射正常のハートレイ系白色モルモット 30 匹を用いて、それぞれ 10 匹ずつレクチン染色、糖鎖免疫組織染色、神経ペプチド染色を行った。中耳炎モデル動物 30 匹を朴沢らの方法に準じて免疫複合体鼓室注入によって作成し、注入後 7 日めに断頭して正常動物と同様に組織学的に検討した。

Con-A, UEA-1, WGA, DBA, SBA のレクチンのうち con-A は分泌腺の末梢部位に極めて弱い反応を認めただけであった。UEA-1 は耳管上皮分泌細胞の全てに認められたが、それは軟骨部で最も密度が高く骨部から鼓室にかけて減少傾向にあった。DBA は roof portion 以外の少数の上皮内分泌細胞に陽性であったが、分泌腺では陽性、陰性細胞が混在して時に強陽性反応をみとめた。SBA は DBA と異なりほとんどの上皮内分泌細胞に陽性反応を認め mucous blanket も強染したが、分泌腺の反応は弱かった。WGA は粘膜上皮表層に陽性であったが、その他の部位では微弱であった。このようなレクチンによる反応は、中耳炎動物でも著変なく軟骨部での UEA-1 陽性細胞のみが増加傾向にあった。

糖鎖の局在については sialyl I と i が上皮表層全周に分布し、GT3 は軟骨部では neck portion 以外に存在するがそのほかの部位では全周性にみとめられた。逆に asialo GM1 は neck portion だけに認められた。これらの反応は中耳炎惹起耳管において、特に sialyl I が注入 3 日目から増大し 7 日目に最強となった。いっぽう、i は 3 日目から反応が減弱し 10 日目には正常に復した。

また、SP, CGRP 陽性線維が耳管粘膜下にネットワークを形成し、その一部は血管周囲にも認められた。そして、中耳炎動物でも分布に大差を認めなかった。以上の観察結果より、耳管では roof portion は粘液分泌機能は弱く換気能と中耳貯留液の輸送路として機能し、耳管下部の内外壁は豊富な粘液分泌能とその輸送を受け持っているが炎症時にはこれが破綻していると考察した。このように石戸谷論文では耳管粘膜の部位的特異性を免疫組織学的に明らかにして、中耳炎病態との関連について多くの示唆を与えた。従って、本研究は学位論文としてふさわしいものと結論した。